

Aus der Universitäts-Hautklinik Freiburg im Breisgau

Direktor: Professor Dr. med. K. W. Kalkoff

**Untersuchungen zur Hämolyse
durch sichtbares Licht
bei Personen mit und ohne
Lichtüberempfindlichkeit**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Ursula Brigitte Schanbacher

aus Kehl/Rhein

1965

Aus der Universitäts-Hautklinik Freiburg im Breisgau
Direktor: Professor Dr. med. K. W. Kalkoff

**Untersuchungen zur Hämolyse
durch sichtbares Licht
bei Personen mit und ohne
Lichtüberempfindlichkeit**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Ursula Brigitte Schanbacher

aus Kehl/Rhein

1965

Dekan: Professor Dr.med. K. W. KALKOFF

Referent: Professor Dr.med. K. W. KALKOFF



Herrn Professor Dr.med. A. N i ß l e
und seiner Frau Gemahlin zum Dank



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Untersuchungsmaterial und Methodik . .	3
III. Ergebnisse	5
A. Untersuchungen zur Methodik	5
1. Beeinflussung durch Lagerungs- dauer des Blutes	5
2. Verhalten der Erythrocyten in HANKSscher Lösung	6
B. Untersuchungen bei Kontrollpersonen .	9
1. Streuung der Normalwerte	9
2. Mehrfachuntersuchungen einzel- ner Personen	12
3. Prüfung auf Abhängigkeit vom Menstruationszyklus	12
C. Untersuchungen bei Patienten mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit .	15
IV. Erörterung der Befunde	19
V. Zusammenfassung	23
VI. Literaturangaben	27

I. E i n l e i t u n g

Die ersten Versuche über Hämolyse durch Lichtstrahlen wurden von SACCHAROFF und SACHS, unabhängig hiervon gleichzeitig von PFEIFFER, an isolierten, durch Eosinzusatz sensibilisierten Erythrocyten vorgenommen (1905). Durch u l t r a - v i o l e t t e s Licht ließ sich auch eine Hämolyse bei normalen Erythrocyten erzielen (HASSELBALCH 1909). HAXTHAUSEN (Diss. 1919) hat nach der von HASSELBALCH angegebenen Methode eine verstärkte Hämolyse bei 16 von 26 Patienten mit polymorphem Lichtausschlag gegenüber Normalpersonen gefunden. Weitere Arbeiten über die hämolytische Wirkung des ultravioletten Lichtes bei Patienten mit Lichterkrankungen der Haut sind im Schrifttum nicht angegeben.

Untersuchungen über die Wirkung des s i c h t - b a r e n Lichtes auf unvorbehandelte Erythrocyten von gesunden Personen wie auch von Patienten mit Lichtdermatosen sind unseres Wissens bisher nicht beschrieben.

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen war die im Rahmen einer Untersuchungsreihe über das Cytolysephänomen gemachte Beobachtung, daß die Erythrocyten einer bestimmten Blutprobe unter der Einwirkung langwelliger Lichtstrahlen auffallend frühzeitig hämolysierten (BUCK). Dieser Befund gewann besonders, weil das Blut von einem Patienten mit einer Porphyria cutanea tarda stammte, und führte zu systematischen Untersuchungen (KALKOFF und BUCK), ob durch das sichtbare Licht Erythrocytenschädigungen bei solchen Krankheiten auftreten, die mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit einhergehen oder einhergehen können: die

Porphyria erythropoetica, die Porphyria cutanea tarda, die coproporphyrinämische und die protoporphyrinämische Lichtdermatose, die Lichturticaria, der polymorphe Lichtausschlag, der Lupus erythematodes chron. u.a.

Das Ziel dieser Arbeit bestand zunächst darin, Erythrocyten ohne mechanische, chemische und bakterielle Vorschädigungen durch Waschen zu isolieren, um Plasmaeffekte zu vermeiden, und bei Beachtung der eben genannten Kriterien unter Ausschluß einer Wärmewirkung gleichmäßig mit langwelligen Strahlen zu belichten, um anschließend die Ergebnisse objektivierbar festzuhalten. Das Verhalten der Erythrocyten gegenüber sichtbarem Licht sollte bei gesunden Personen (7 Probanden) und bei 20 Patienten mit Krankheiten, die keine Anzeichen einer Lichtempfindlichkeit aufweisen, geprüft werden, um die gleichzeitig an 33 Patienten mit den oben erwähnten Krankheiten (Porphyria erythropoetica, Porphyria cutanea tarda usw.) durchgeführten Untersuchungen sicher beurteilen zu können.

II. U n t e r s u c h u n g s m a t e r i a l u n d M e t h o d i k

Das verwendete Venenblut wird durch einen 10%igen Zusatz von Vetren (Heparin-Präparat der Promonta, Hamburg, enthält in 1 ccm 100 I.E.Heparin) ungerinnbar gemacht, zentrifugiert und der Überstand verworfen. Die auf solche Weise isolierten Erythrocyten werden dreimal in HANKSscher Lösung im Verhältnis 1:10 aufgeschwemmt und jeweils abzentrifugiert. Durch das dreimalige Waschen mit der HANKSschen Lösung, bei deren Herstellung in Abänderung des Standardrezeptes auf den Chloroformzusatz verzichtet wird, ist das Plasmaeiweiß praktisch vollständig entfernt worden.

Von den gewaschenen Erythrocyten wird eine 2%ige Suspension ebenfalls in HANKSscher Lösung hergestellt, ein Tropfen davon auf einen Objektträger gegeben und dieser mit einem Deckglas bedeckt. Um ein Austrocknen zu verhindern, wird das Präparat sorgfältig mit weißer Vaseline umrandet.

Kurz vor ihrer Verwendung wird die zum Waschen und Aufschwemmen benutzte HANKSsche Lösung durch Zusatz von 1,4%iger Natrium-Bicarbonat-Lösung mittels pH-Meter (Fa.Knick, Berlin) auf ein pH von 7,4 eingestellt.

Um eine Schädigung der Erythrocyten zu vermeiden, erfolgt das Arbeiten unter sterilen Bedingungen; Glasgefäße, Objektträger und Deckgläser sind chemisch gereinigt und vor Gebrauch mehrmals mit Aqua dest. und Alkohol nachbehandelt.

Zur Untersuchung der Wirkung des sichtbaren Lichtes auf die Erythrocyten wird ein Photomikroskop

(Ultraphot II, Zeiss) verwendet. Damit besteht gleichzeitig die Möglichkeit, das mikroskopische Bild für eine spätere Auswertung auf einfache Weise photographisch festzuhalten.

Nach Einstellen eines günstigen Blickfeldes in der Mitte des Präparates wird dieses bei offener Iris- und Leuchtfeldblende mit 12 V und einer 100 W Lampe belichtet. Das Vorsetzen eines Wärmefilters schließt die Beeinflussung der Erythrocyten durch einen Wärmeeffekt aus.

Das ausgewählte Blickfeld wird nach einer Belichtungsdauer von 4, 16, 24, 32, 48, 64, 85, 108 und 128 Minuten photographiert und so die Hämolyse, die bei den einzelnen Zellen nacheinander einsetzt und dann sehr schnell erfolgt, in ihrem zeitlichen Ablauf festgehalten. Die hämolysierten Erythrocyten bleiben als Stromaschatten sichtbar, können anhand der photographischen Bilder ausgezählt und ihr Anteil in Prozent errechnet werden. Für eine zufriedenstellende Beurteilung der Licht-hämolyse erscheint es ausreichend, den Prozentsatz der nach 64 Minuten in Lyse gegangenen Zellen anzugeben.

Es ist darauf zu achten, die Blutentnahme aus der Vene unter Verwendung einer genügend weiten Kanüle (möglichst einer Flügelkanüle) vorzunehmen, damit das Blut fast von selbst abfließen kann. Durch starkes Anziehen mit dem Spritzenstempel kam es nämlich wiederholt zu einer mechanischen Vorschädigung der Erythrocyten - wie auch mehrfache Reproduktionen in vitro ergaben - so daß ein solches bereits hämolytisches Blut zu Versuchszwecken unbrauchbar war.

III. Ergebnisse

A. Untersuchungen zur Methodik

1. Beeinflussung durch Lagerungsdauer des Blutes

Zur Sicherung der Methodik war es wichtig, zunächst den Einfluß der Lagerungszeit des Blutes auf die Lichthämolyse zu prüfen. Dazu wurde eine Erythrocytenprobe am Abnahmetag des Blutes, eine zweite wurde von ein und demselben Blut nach 1 x 48 Std., eine weitere nach 2 x 48 Std. und schließlich eine vierte nach 3 x 48 Std. Lagerungszeit des Vollblutes entnommen, gewaschen und anschließend belichtet. Die Aufbewahrung des Blutes erfolgte bei Zimmertemperatur.

Wie aus Tabelle 1 (Seite 7) Spalte II, IV, VI zu entnehmen ist, lagen die Prozenzhämolysewerte nach einer Belichtungszeit von 64' bei den Kontrollgruppen a (gesunde Personen) und b (Patienten ohne Verdacht auf Lichtempfindlichkeit oder auf Störungen des Porphyrinstoffwechsels) nach 48 Std. Lagerungszeit des Blutes ohne Ausnahme zwischen 1 und 33 %. Am Abnahmetag, sowie nach 2 x 48 Std. und nach 3 x 48 Std. zeigten vereinzelte Erythrocytenproben eine auffallend starke Hämolyse (mit je einem Höchstwert über 80 %).

In Gruppe c der Tabelle 1 sind Patienten aufgeführt, deren Krankheit sowohl mit einer erhöhten Lichtempfindlichkeit als auch mit einer Porphyrinstoffwechselstörung einherging. Es handelte sich vorwiegend um Patienten mit einer Porphyria cutanea tarda. Die Prozentanteile der hämolysierten Erythrocyten ergaben nach 48 stündiger Aufbewah-

rung des Blutes ausnahmslos Werte zwischen 40 und 100 % und lagen auch nach 2 x 48 Std. innerhalb dieses Bereiches. Am Abnahmetag sowie nach einer Blutlagerungszeit von 3 x 48 Std. schwankte der Prozentsatz der in Lyse gegangenen Zellen von 8 - 65 % bzw. von 26 - 100 %.

Somit kann die Frage nach der Beeinflussung der Lichthämolyse durch die Lagerungszeit des Blutes dahingehend beantwortet werden, daß bei den Kontrollpersonen wie auch in der Patientengruppe c die Lichtempfindlichkeitsprüfung der Erythrocyten im 48 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrten Blut die zuverlässigsten Ergebnisse zeigt. Die Resultate nach 2 x 48 Std. lassen lediglich für niedrigere Hämolysewerte noch sichere Rückschlüsse zu.

Durch vereinzelt herausfallende Werte ist eine eindeutige Beurteilung der Lichthämolyse am Tag der Blutentnahme sowie nach 3 x 48 Std. Blutlagerungszeit - bei gesteigerter Lyse auch nach 2 x 48 Std. - nicht möglich.

2. Verhalten der Erythrocyten in HANKSscher Lösung

Weiterhin war die Beeinflussung der Lichthämolyse durch die zum Waschen und Aufschwemmen der Erythrocyten verwendete HANKSsche Lösung zu untersuchen: aus der am Abnahmetag des Blutes hergestellten Erythrocyten suspension wurde eine Probe sofort belichtet, eine zweite wurde nach einer Lagerungszeit von 1 x 48 Std., eine weitere nach 2 x 48 Std. und eine letzte nach 3 x 48 Std. entnommen und auf Lichtempfindlichkeit hin überprüft. Die Aufbewahrung der Erythrocytenaufschwemmung in HANKSscher Lösung erfolgte wiederum bei Zimmertemperatur. Der Prozentsatz der nach 64'

Tabelle 1

Abhängigkeit der Lichthämolyse von der Lagerungs-
dauer (1x48 Std., 2x48 Std., 3x48 Std.)

der Erythrocyten

a) im Vollblut (Spalte II, IV, VI)

b) in HANKSscher Lösung (Spalte I, III, V)

Name Geschlecht	Diagnose	% der hämolytierten Erythrocyten im Blickfeld nach 64' Belichtungszeit							
		Abnahme- tag	1x48 Std I II		2x48 Std III IV		3x48 Std V VI		
a) gesunde Personen									
As.A.	♀	5	0	4	0	18	9	15	
Bu.A.	♀	88	99	17	100	9	67	9	
Scha.U.	♀	19	36	17	8	4	2	42	
Fl.B.	♀	3	1	6	0	10	1	5	
Mu.T.	♀	0	0	1	0	8	0	9	
b) Patienten ohne Verdacht auf Lichtempfindlichkeit									
Schw.A.	♂	Neurodermitis	0	6	5	1	33	8	2
Ge.R.	♂	Candidamykose	3	4	6	40	62	89	22
Hu.M.	♂	Mb.Bowen, Keratomata senilia	22	8	11		84		43
Mo.E.	♂	Trichophytie	63	82	24			100	97
Tro.A.	♂	bakterielles U'schenkeleczem	13	3	17				
Ha.K.H.	♂	Akne vulgaris	9	9	11				
Ro.W.	♂	Fragl. Lichen ruber		38	33				
c) Patienten mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit und Porphyrinstoffwechselstörungen									
Ed.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	58	30	100			0	100
Ed.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	56	32	46	15	73		
Be.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	8	9	48	99	93	100	
He.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	36	2	84	10	40	40	26
Ra.T.	♀	Porphyria cutanea tarda	35	32	100		42		
Ru.B.	♂	Polymorpher Lichtausschlag	54	7	40				
Me.E.	♂	Epidermolysis bullosa dyst.	65		73				

gelösten Zellen ist ebenfalls in Tabelle 1 (S.7) Spalte II, IV, VI aufgeführt, um so gleichzeitig einen Vergleich mit den im eigenen Plasma gelagerten Erythrocyten anstellen zu können.

Bei den Kontrollpersonen in Gruppe a und b bewiesen die gleichmäßig nach 1 x 48 Std., 2 x 48 Std. und 3 x 48 Std. vereinzelt aufgetretenen Schwankungen bis 99 % bzw. 100 % Hämolyse, daß eine zuverlässige Beurteilung der Erythrocytenschädigung durch Licht bei den in HANKSscher Lösung aufbewahrten Zellen nicht möglich ist.

Hingegen lassen - wie oben dargelegt - die weitgehend konstanten Hämolysewerte bei den 1 x 48 Std. im eigenen Plasma gelagerten Erythrocyten sichere Aussagen zu. Bis auf diese wenigen Ausnahmen mit hoher Lyse bestehen sonst jedoch in der Lichtempfindlichkeit nur so geringe Unterschiede gegenüber den im natürlichen Medium aufbewahrten Zellen, daß daraus ein die Lichthämolyse im allgemeinen verstärkender Effekt der HANKSschen Lösung nicht abgeleitet werden kann.

Auffallend waren die Ergebnisse in der Patienten-Gruppe c. Die 48 Std. in HANKSscher Lösung gestandenen Erythrocyten zeigten ausnahmslos eine bedeutend geringere Hämolyse (zwischen 2 und 32 %) im Vergleich zu den gleich lange im Plasma verbliebenen Erythrocyten (zwischen 40 und 100 %). Eine die Lichthämolyse beschleunigende Wirkung der HANKSschen Lösung ist hier ebenfalls nicht ersichtlich. Die starken Schwankungen der Werte bei jeweils nur 3 Untersuchungen nach 2 x 48 Std. und 3 x 48 Std. erlauben hingegen keine Aussagen.

B. Untersuchungen bei Kontroll- personen

1. Streuung der Normalwerte

Um über das Ausmaß der Lichthämolyse genauere Angaben machen zu können, interessierte als erstes der Streuungsbereich der Kontrollpersonen. Zunächst ließen sich zwei Gruppen aufstellen:

- a) gesunde Klinikangehörige,
- b) Patienten mit verschiedenen Krankheiten, bei denen jedoch kein Anhalt für gesteigerte Lichtempfindlichkeit oder für eine Störung des Porphyrinstoffwechsels vorlag.

Aus Tabelle 2 (S.10) geht hervor, daß die Prozenthämolysewerte der Personengruppe a nach 1 x 48 Std. Lagerungszeit der Erythrocyten im eigenen Plasma, d.h. als Vollblut, und anschließend durchgeführtem Waschprozeß sowie nach einer Belichtungsdauer von 64' sich ausnahmslos zwischen 0 und 28 % bewegen, in Gruppe b zwischen 1 und 33 %. Somit konnte zwischen den beiden Kollektiven in bezug auf die Lichtempfindlichkeit unter vollständig gleichen Versuchsbedingungen kein wesentlicher Unterschied festgestellt werden. Die erhaltenen Werte bei insgesamt 27 Normalpersonen verteilten sich demnach gleichmäßig zwischen 0 und 33 %.

Außerdem sind in Tabelle 2 die nach 48' Belichtungszeit hämolysierten Zellen aufgeführt. Ihr Prozentsatz liegt zwischen 0 und 16 % gegenüber dem bedeutend größeren Streuungsbereich von 0 bis 33 % nach 64'.

Vergleichsweise zeigen die noch zu besprechenden

Tabelle 2

Lichthämolyse bei Kontrollpersonen
(nach 48 stündiger Lagerungszeit des Blutes)

Nr.	Name Geschlecht		Diagnose	% der hämolysierten Erythro- cyten im Blickfeld nach	
				48'	64'
a) gesunde Personen					
1	Bu.A.	♀		9	17
2	As.A.	♀		7	14
3	Ju.H.	♀		0	0
4	Fl.B.	♀		5	6
5	Scha.U.	♀		15	28
6	Mu.T.	♀		1	1
7	Zi.H.	♀		1	2
b) Patienten ohne Anhalt für Lichtempfindlichkeit					
1	We.K.	♂	Hyperkeratosis palm. et plant.	11	26
2	Hu.M.	♂	Mb. Bowen, Keratomata senilia	14	26
3	Ba.J.	♂	Psoriasis	1	1
4	Bü.A.	♀	Psoriasis	9	10
5	Schr.M.	♀	Mykosis fungoides	7	8
6	Ge.R.	♂	Candidamykose	3	6
7	Mo.E.	♂	Trichophytie	12	24
8	Hu.J.	♂	Epidermophytie	5	7
9	Le.W.	♂	Kontaktekzem, Epidermophytie	7	12
10	Mi.R.	♂	gen. Ekzem	1	2
11	Tro.A.	♂	bakterielles U'schenkelekzem	9	17
12	Tri.O.	♂	Ulcus cruris	5	14
13	Zi.J.	♀	Bullöses Pemphigoid	4	7
14	Tru.E.	♀	Vitiligo, Chloasma uterinum	16	24
15	Schw.A.	♂	Neurodermitis	0	5
16	He.D.	♂	Neurodermitis	6	20
17	Mü.R.	♂	Neurodermitis	3	16
18	Wi.R.	♂	Dermatitis herpetiformis	6	8
19	Ha.K-H.	♂	Akne vulgaris	7	11
20	Ro.W.	♂	Fragl. Lichen ruber	15	33

Tabelle 3

Lichthämolyse bei Patienten
mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit
und Porphyrinstoffwechselstörungen

Pat. Nr.	Name Geschlecht		Diagnose	% Hämolyse nach	
				48'	64'
1	Ed. J.	♂	Porphyria cutanea tarda	31	46
2	Ed. J.	♂	Porphyria cutanea tarda	100	100
3	Ra. T.	♀	Porphyria cutanea tarda	96	100
4	Be. J.	♂	Porphyria cutanea tarda	23	48
5	He. J.	♂	Porphyria cutanea tarda	47	84
6	Me. E.	♂	Epidermolysis bullosa dyst.	23	73
7	Ru. B.	♂	Polymorpher Lichtausschlag	12	40

in Tabelle 3 zusammengestellten Fälle (Patienten mit erhöhter Lichtempfindlichkeit und nachgewiesener Porphyrinstoffwechselstörung) nach 48' Schwankungen zwischen 12 und 100 %, nach 64' zwischen 40 und 100 %. Aus diesen Ergebnissen war zu schließen, daß die nach 64' Belichtungszeit errechneten Hämolysewerte zur Unterscheidung einer pathologisch gesteigerten von einer normalen Lichtempfindlichkeit der Erythrocyten geeigneter sind als die nach 48' ermittelten (Abb. 1 - 6, Tafel zwischen Seite 12 und 13).

Das beweist auch der Patient Nr.7 (Tab.3) mit polymorphem Lichtausschlag, der bei der Gegenüberstellung der 48' Werte von Normalpersonen differentialdiagnostisch nicht abzugrenzen ist, nach 64' aber deutlich über dem für die Kontrollen zum gleichen Zeitpunkt ermittelten Höchstwert liegt.

2. Mehrfachuntersuchungen einzelner Personen

Zur Prüfung des Streuungsbereiches der Lichthämolyse bei ein und derselben Kontrollperson wurden Mehrfachuntersuchungen bei 3 Gesunden (Gruppe a) sowie bei 4 Patienten ohne Hinweis auf gesteigerte Lichtempfindlichkeit oder auf Störungen des Porphyrinstoffwechsels (Gruppe b) durchgeführt. Die Blutentnahmen erfolgten teilweise in relativ kurzen Zeitabständen hintereinander (nach jeweils 48 Std.), z.T. auch nach einem längeren Intervall (bis zu mehreren Monaten). Von einer Person liegen wenigstens 3 Untersuchungsergebnisse vor.

Die Tabelle 4 (S.13) bringt eine Zusammenstellung der erhaltenen Werte. Es zeigt sich, daß regelmäßig bei den einzelnen Fällen relativ große Schwankungen bis zu einer maximalen Differenz von 27 % vorkommen, jedoch völlig unabhängig davon, ob es sich zwischen den Untersuchungen um kürzere (z.B. bei den Fällen 4 und 5 Blutentnahme jeden 2.Tag über eine Woche hin) oder um längere Zeitspannen handelte.

Wie erwartet verhielten sich die Kollektiven a und b gleich, auch waren die Zahlenergebnisse insofern befriedigend, als sie größenordnungsmäßig, bei einem Höchstwert von 31 %, mit dem für Kontrollpersonen gefundenen Normalbereich übereinstimmten.

3. Prüfung auf Abhängigkeit vom Menstruationszyklus

Ferner wurden bei 5 gesunden Frauen Untersuchungen darüber durchgeführt, ob zyklusabhängige Schwankungen der Empfindlichkeit der Erythrocyten gegenüber Licht bestehen.

Lichthämolyse

a) Kontrollperson

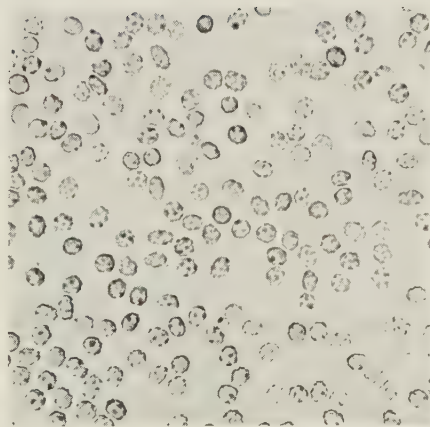


Abb. 1

b) Patient mit
Porphyria cutanea tarda

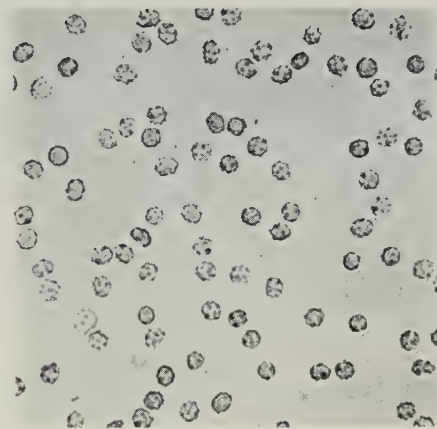


Abb. 4

nach 4'
Belichtungszeit

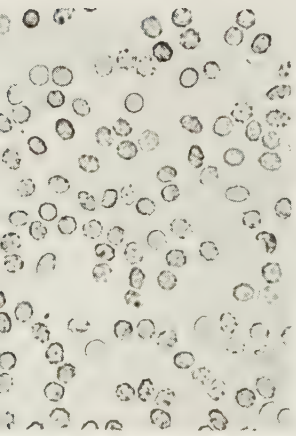


Abb. 2 : 7 % Hämolyse

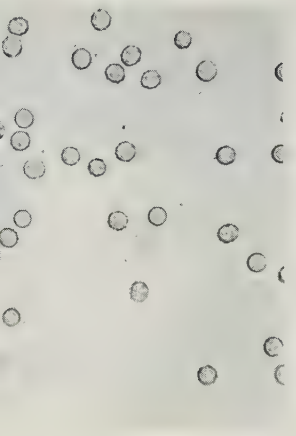


Abb. 5 : 47 % Hämolyse

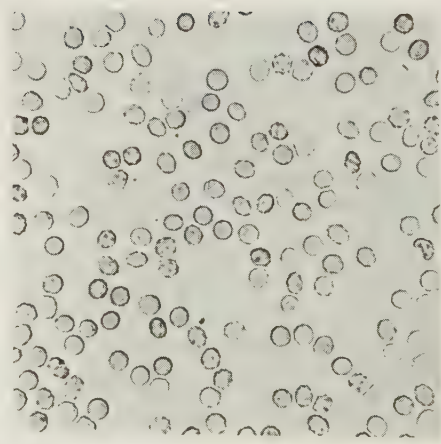


Abb. 3 : 14 % Hämolyse

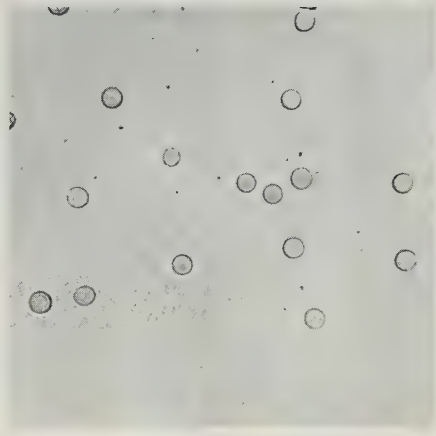


Abb. 6 : 84 % Hämolyse

nach 48'
Belichtungszeit

nach 64'
Belichtungszeit

Tabelle 4

Mehrfachuntersuchungen der Lichthämolyse
bei 7 Kontrollpersonen
(Lagerungszeit des Blutes jeweils 48 Stunden)

Nr. Geschlecht	Diagnose	Datum der Blutentnahme	% Hämolyse nach 64' Belichtungszeit	Streuung
a) gesunde Personen				
1 ♀		18. 2. 1964 20. 2. 1964 24. 2. 1964 26. 2. 1964 8. 4. 1964 16. 4. 1964	28 3 30 12 17 24	3 - 30 %
2 ♀		19. 5. 1963 11. 12. 1963 22. 2. 1964 16. 6. 1964	17 25 17 0	0 - 25 %
3 ♀		24. 2. 1964 13. 4. 1964 23. 4. 1964 23. 5. 1964	14 4 0 0	0 - 14 %
b) Patienten ohne Anhalt für Lichtempfindlichkeit				
4 ♂	Mb. Bowen, Kera- tomata senilia	6. 12. 1963 8. 12. 1963 10. 12. 1963 12. 12. 1963	26 9 31 11	9 - 31 %
5 ♂	Psoriasis	7. 4. 1964 9. 4. 1964 11. 4. 1964 13. 4. 1964	1 24 4 4	1 - 24 %
6 ♀	Mykosis fungoides	5. 3. 1964 22. 4. 1964 11. 5. 1964 26. 5. 1964	0 8 24 2	0 - 24 %
7 ♂	Hyperkeratosis palm. et plant.	15. 10. 1963 21. 10. 1963 23. 10. 1963	26 17 7	7 - 26 %

Nach Beobachtungen von DIETRICH (1928) wies die Haut im Verhalten des Lichterythems nach Bestrahlung mit Höhensonne in 21 von 25 Fällen Schwankungen auf, die den zyklischen Phasen parallel zu laufen schienen. Die Reaktion der Haut auf Bestrahlung erreichte bei diesen Fällen das Maximum im Praemenstruum, das Minimum im postmenstruellen Stadium. Die Reizschwelle schien praemenstruell vermindert, da in diesem Zustand wesentlich schwächere Reize den gleichen Effekt hervorzurufen in der Lage waren wie in den anderen Phasenbildern.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde bei den 5 in Tabelle 5 aufgeführten Frauen eine Blutentnahme 2 - 4 Tage vor Menstruationsbeginn (Progesteronphase) sowie eine 2. am 7. Tag des Zyklus (Östrogenphase) entnommen. Die dabei gefundenen Hämolysewerte liegen sämtliche unter 25 %, blieben also innerhalb der Grenze für Normalpersonen und sind in beiden Phasen annähernd gleich groß.

Tabelle 5

Untersuchungen über Zyklusabhängigkeit der Lichthämolyse bei 5 gesunden Frauen

Nr.	Alter	% Hämolyse nach 64' Belichtungszeit	
		2 - 4 Tage vor Menstruationsbeginn (Progesteronphase)	7. Zyklustag (Östrogenphase)
1	35 J.	25	17
2	25 J.	4	0
3	26 J.	17	24
4	22 J.	0	3
5	27 J.	1	1

Soweit man dies aus den wenigen Fällen ableiten kann, ist somit bei gesunden Frauen kein Hinweis auf ein zyklusabhängiges Verhalten der Erythrocyten gegenüber sichtbarem Licht gegeben.

Auch in einem untersuchten Fall einer Gravidität (Mens IX) zeigten die Erythrocyten mit einem Hämolyseanteil von 2 % nach 64' Belichtungszeit kein auffälliges Verhalten.

C. Untersuchungen bei Patienten mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit

Unter Berücksichtigung der aus den Abschnitten III A und B resultierenden Befunde wurden nun die Erythrocyten solcher Patienten untersucht, bei denen eine Lichtüberempfindlichkeit besteht oder bestehen kann, wobei in vielen Fällen auch eine Störung des Porphyrinstoffwechsels nachweisbar ist. Es handelt sich vor allem um die eingangs erwähnten Krankheiten wie: Porphyria erythropoetica, coproporphyrinämische und protoporphyrinämische Lichtdermatose, Porphyria cutanea tarda, Lichturticaria, polymorpher Lichtausschlag, Erythematodes chron. etc.

Diese Patienten sowie einige mit fraglich gesteigerter Lichtempfindlichkeit sind in Tabelle 6 (S.17) zusammengefaßt.

Von 14 Fällen, bei denen neben der Lichtüberempfindlichkeit eine Porphyrinstoffwechselstörung gefunden wurde, zeigten 11 eine pathologische Hämolyse zwischen 40 % und 100 %, im Vergleich zu den Normalwerten (0 bis 33 %), wie sie sich aus

den Untersuchungen im Abschnitt III B ergaben.

Bei den beiden Patienten mit Porphyria cutanea tarda (Nr. 9 und Nr. 10), deren Hämolyse im Normalbereich lag, war aufgefallen, daß zur Zeit der Blutentnahme für die Erythrocytenuntersuchung klinisch nur geringgradige, darunter keine frischen Erscheinungen (keine Blasen) bestanden haben.

Im Falle Nr. 14, einer sehr fraglichen Lichtempfindlichkeit nach Kontakt mit Corbal, fand sich vorübergehend lediglich eine eigenartige Vermehrung der 6-COOH-Porphyrine im Urin (Ergebnis des Labors Doz.Dr.R.Clotten, Med.Univ.-Klinik Freiburg i.Br.), die auf einen fraglichen Leberschaden (Intoxikation?) hinwies. Die bei diesem Patienten vorgenommenen Mehrfachuntersuchungen der Erythrocyten auf Lichtempfindlichkeit ergaben jeweils der Norm entsprechende Hämolysewerte:

Datum der Blutentnahme (1963)	1.10.	3.10.	5.10.	7.10.	9.10.	16.10.
% Hämolyse nach 64'	7	16	33	22	5	24

Andererseits ist aus Tabelle 6 zu entnehmen, daß bei 3 Fällen mit polymorphem Lichtausschlag sowie bei einer Patientin mit Lichturticaria und in dem einen Fall einer erythematodesähnlichen Lichtdermatose eine pathologisch gesteigerte Lichtempfindlichkeit der Erythrocyten vorlag, ohne daß Anzeichen einer Porphyrinstoffwechselstörung vorhanden waren.

Die Gruppe der Personen mit polymorphem Lichtausschlag (Nr. 16 - 22) wies bis auf eine Patientin (Nr. 22), die auch klinisch nicht sicher einzuordnen war, eine deutlich verstärkte Lichthämo-

Tabelle 6

Hämolyse bei Patienten mit Krankheiten, die mit einer gesteigerten Lichtempfindlichkeit einhergehen bzw. einhergehen können, wobei teilweise eine Porphyrinstoffwechselstörung vorliegt, sowie bei Fällen mit fraglicher Lichtüberempfindlichkeit

Störung des Porphyrinstoffwechsels: nachgewiesen +
nicht nachweisbar Ø
nicht untersucht /

Pat. Nr.	Name Geschlecht		Diagnose	Störung des Porphyrin- stoffwechsels	% Hämolyse nach 64'
1	Br.K.-J.	♂	Porphyria erythropoetica	+	100
2	Me.M.	♀	Coproporphyrinämische Lichtempfindlichkeit	+	100
3	Di.A.	♀	Protoporphyrinämische Lichtdermatose	+	72
4	Ju.E.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	100
5	Ed.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	100
6	Ra.T.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	100
7	He.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	84
8	Be.J.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	48
9	Schö.G.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	16
10	Me.H.	♂	Porphyria cutanea tarda	+	22
11	Me.E.	♂	Epidermolysis bullosa dyst.	+	73
12	Sche.J.	♂	Lichturticaria	+	92
13	Se.H.	♂	Lichturticaria	Ø	100
14	Üb.G.	♂	Fragl.Lichtempfindlichkeit nach Kontakt mit Corbal	+	7
15	Sp.A.	♂	Lichtempfindlichkeit nach Jadit	Ø	10
16	Ru.B.	♂	Polymorpher Lichtausschlag (Hydroa vacciniformis)	+	40
17	Al.E.	♀	Polymorpher Lichtausschlag (Granuloma anulare)	Ø	100
18	Le.U.	♀	Polymorpher Lichtausschlag (maculo-papulöser Typ)	/	76
19	Kr.E.	♂	Polymorpher Lichtausschlag	Ø	56
20	Schu.J.	♂	Polymorpher Lichtausschlag	/	52
21	Fr.Fr.	♂	Polymorpher Lichtausschlag	Ø	41
22	Do.Cnr.	♂	Fragl.polymorpher Lichtausschlag	Ø	26
23	Ma.M.	♂	Photodynamische Lichtdermatose	/	94
24	Kö.Ch.	♂	Lupus erythematodes chronicus	/	2
25	Lo.K.	♂	Lupus erythematodes chronicus	/	2
26	Hu.E.	♂	Lupus erythematodes chronicus	Ø	28
27	Schu.K.	♂	Lupus erythematodes chronicus	/	49
28	Mü.A.	♂	Lupus erythematodes chronicus	/	59
29	Schm.J.	♂	Erythematodesähnl.Lichtdermatose	Ø	55
30	Sche.F.	♂	Fragl.Lichtdermatose	Ø	3
31	Gy.E.	♂	Fragl.Lichtdermatose	Ø	31
32	Schm.H.	♂	Lichtdermatose	Ø	9
33	Ho.R.	♂	Lichtprovoziertes, seborrh.Ekzem	Ø	8

lyse auf. Bei Patient Nr. 16 war auch eine Störung des Porphyrinstoffwechsels gefunden worden.

3 von 5 Probanden mit Lupus erythematoses chron. zeigten Werte innerhalb des normalen Hämolysebereiches; in 2 Fällen wurde eine mäßig gesteigerte Lichtempfindlichkeit der Erythrocyten festgestellt. Beide Patienten waren z.Zt. der Blutentnahme für die Hämolyseuntersuchung nicht erscheinungsfrei; in dem einen Fall (Nr. 28) handelte es sich um einen frischen Schub eines seit 10 Jahren bestehenden chron. Erythematoses. Auch bei Patient Nr. 27 bestand die Krankheit mit 1 1/4 Jahren Laufzeit länger als bei den übrigen Erythematosesfällen. Leider war bei diesen beiden Patienten mit pathologischer Hämolyse keine Untersuchung des Porphyrinstoffwechsels durchgeführt worden. KANSKY (1961) untersuchte bei 25 Fällen mit Erythematoses chron. disc. die Coproporphyrin- und Uroporphyrinausscheidung, dabei fand er bei der Patientengruppe - gegenüber einer Gruppe von 25 Kontrollpersonen - etwas höhere Mittelwerte, doch war der Unterschied statistisch nicht signifikant.

Weitere Ergebnisse sind tabellarisch aufgeführt. Es kann darauf verzichtet werden, sie im einzelnen zu besprechen.

IV. Erörterung der Befunde

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß durch sichtbares Licht eine Hämolyse bei isolierten unvorbehandelten Erythrocyten hervorgerufen werden kann. Die nach 64' Belichtungsdauer in Lyse gegangenen Zellen lassen sich auszählen und in Prozent errechnen. Bei Normalpersonen scheinen die Hämolyseanteile gleichmäßig verteilt zwischen 0 und 33 % zu liegen. Die Werte sind reproduzierbar, vorausgesetzt, daß eine strenge Konstanthaltung aller experimentellen Bedingungen gewährleistet ist: Blutentnahme mit weiter Kanüle, Stehenlassen des Blutes 1 x 48 Std. bei Zimmertemperatur, dann dreimaliges Waschen der Erythrocyten und Herstellung einer 2 %igen Suspension in HANKSscher Lösung.

Versuchsweise war bei der pH-Einstellung der HANKSschen Lösung Indikatorpapier Merck zur Anwendung gekommen. Es erwies sich aber hier als ungeeignet, da das Papier gegenüber den mittels pH-Meter gefundenen Werten fast regelmäßig eine pH-Differenz von + 1 anzeigte.

Hohe Hämolysewerte, wie sie in Ausnahmefällen am Abnahmetag des Blutes auch bei Kontrollpersonen vorkommen (Tab.1 a und b, S.7), sind vermutlich durch eine Vorschädigung der Erythrocyten bei der Blutentnahme bedingt. (Möglicherweise handelte es sich um Erythrocyten, bei denen bereits eine verminderte Resistenz vorlag.) Wird das Blut 1 x 48 Std. stehengelassen, ist diese gesteigerte Lichtempfindlichkeit der Erythrocyten nicht mehr nachweisbar; sie bleibt jedoch bei 48 stündiger Lagerung der Zellen in HANKSscher Lösung bestehen. Diese Befunde sprechen offenbar für eine Schutz-

funktion des Plasmas, die bei der HANKSschen Lösung wahrscheinlich aufgrund ihrer verhältnismäßig einfachen Zusammensetzung nicht vorliegt.

Vereinzelte pathologische Hämolysewerte bei Kontrollpersonen, wie sie nach 2 x 48 Std. und 3 x 48 Std. sowohl bei Lagerung der Erythrocyten im Vollblut als auch in HANKSscher Lösung auftreten, sind vermutlich auf eine Schädigung der Zellen durch die ebenfalls unphysiologischen Stoffwechselbedingungen zurückzuführen.

Bei Patienten mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit und erhöhten Porphyrinwerten (Tab. 1 c, S. 7) zeigen die 1 x 48 Std. in HANKSscher Lösung aufbewahrten Zellen ausnahmslos eine Hämolyse im Normbereich, im Gegensatz zu den gleichlange im Plasma verbliebenen Erythrocyten, die sämtliche eine gesteigerte Lichtempfindlichkeit aufweisen. Diese auffallenden Ergebnisse könnten ihre Erklärung darin finden, daß eine Schädigung durch die 48 stündige Einwirkung der Plasmaporphyrine an den im Vollblut gelagerten Zellen eingetreten ist, die zu einer pathologischen Licht-hämolyse führt. Andererseits ist anzunehmen, daß die gewaschenen, in HANKSscher Lösung aufgeschwemmten Erythrocyten innerhalb 48 Std. ihre Porphyrine teilweise auch an die Suspensionslösung abgeben können, somit also einen geringeren Porphyringehalt aufweisen, als die im eigenen Plasma aufbewahrten Zellen.

Diese Befunde lassen erkennen, daß möglicherweise eine Ursache für die pathologisch gesteigerte Lichtempfindlichkeit der Erythrocyten in einem vermehrten Porphyringehalt der Zellen zu suchen ist. Durch den jeweils vorausgehenden Waschprozeß ist eine Beeinflussung von Seiten des Plasmas während der Belichtung ausgeschlossen.

Bei 11 von 14 Patienten mit einer Lichtüberemp-

findlichkeit und gleichzeitiger Störung des Porphyrinstoffwechsels wird eine deutlich erhöhte Hämolyse gefunden. Andererseits weisen auch Erythrocyten von Patienten mit gesteigerter Lichtempfindlichkeit jedoch ohne nachweisbare Porphyrinstoffwechselstörung teilweise pathologische Werte auf. Es ist zu erwägen, ob auch in diesen Fällen etwa so geringgradige Störungen des Porphyrinstoffwechsels für die Hämolyse verantwortlich zu machen sind, daß sie mit den derzeitigen Methoden nicht nachgewiesen werden können. Doch dürften auch bisher noch unbekannte, vom Porphyrinstoffwechsel unabhängige Faktoren eine Rolle spielen, die das Zustandekommen stark erhöhter Hämolysewerte bei der Lichturticaria und teilweise beim polymorphen Lichtausschlag erklären könnten.

V. Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen darüber durchgeführt, inwieweit eine bei Patienten mit Lichtdermatosen beobachtete Erythrocytenschädigung durch sichtbares Licht - unter Berücksichtigung der Streuung bei gesunden Probanden, bzw. bei Personen ohne Lichtüberempfindlichkeit - eine Abgrenzung der Patienten zuläßt, deren Krankheiten mit einer gesteigerten Lichtempfindlichkeit einhergehen.

Als erstes wurde zur Ermittlung einer sicheren Untersuchungsgrundlage die Brauchbarkeit der Methodik in bezug auf Lagerungsdauer, Aufbewahrungsmedium und Belichtungszeit der Erythrocyten geprüft. Sodann ist der Frage nach der Schwankungsbreite der in Lyse gehenden Zellen von gesunden Personen und von Patienten mit Krankheiten ohne Anzeichen einer Lichtüberempfindlichkeit nachgegangen worden. Außerdem interessierte der Streuungsbereich der Hämolyse bei Mehrfachuntersuchungen ein und derselben Kontrollperson, sowie die eventuelle Abhängigkeit der Lichtempfindlichkeit dieser Erythrocyten vom Menstruationszyklus. Anhand der so ermittelten Normalwerte wurde die Lichthämolyse bei solchen Patienten untersucht, deren Krankheiten mit einer erhöhten Lichtempfindlichkeit einhergingen und bei denen teilweise auch eine Störung des Porphyrinstoffwechsels vorlag.

Zur Verwendung kamen Erythrocyten aus 48 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrtm Vetrenblut (10 % Vetrenzusatz), die mit HANKSscher Lösung 3 x gewaschen waren. Von einer 2 %igen Aufschwemmung des Erythrocytensediments - ebenfalls in HANKSscher Lösung - wurde eine Probe entnommen, auf

einen Objektträger gegeben, mit einem Deckglas bedeckt und mit sichtbarem Licht unter einem Photomikroskop belichtet. Mittels photographischer Bilder konnten die hämolysierten Zellen ausgezählt und ihr Anteil in Prozent angegeben werden.

Es wurde das Blut von 27 Kontrollpersonen untersucht und von 33 Patienten mit Krankheiten, bei denen eine Lichtüberempfindlichkeit vorlag, davon war bei 14 Probanden gleichzeitig eine Störung des Porphyrinstoffwechsels nachzuweisen. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. Unter Konstanthaltung der in den methodischen Vergleichsuntersuchungen ermittelten optimalen Bedingungen für Blutentnahme, Lagerungsdauer (48 Std.) und Aufbewahrungsmedium der Erythrocyten ließen sich für eine Belichtungsdauer von 64' mittels langwelligen Lichtes reproduzierbare Zahlenwerte in Prozent für die Anzahl der hämolysierten Zellen ermitteln.
2. Die Werte bei 27 Kontrollpersonen lagen gleichmäßig verteilt zwischen 0 und 33 %. Sie konnten durch das Ergebnis der Mehrfachuntersuchungen bei 7 Normalpersonen bestätigt werden; auch hier ergab sich für die Reproduzierbarkeit der Einzelwerte bei ein und derselben Person eine Streuung von 0 - 33 %.
3. Für zyklusabhängige Empfindlichkeit der Erythrocyten gegenüber sichtbarem Licht fand sich bei 5 gesunden Frauen kein Hinweis; die Hämolysewerte lagen im obengenannten ermittelten Normbereich.
4. Bei 11 von 14 Patienten, deren Krankheiten mit einer erhöhten Lichtempfindlichkeit und gleichzeitiger Störung des Porphyrinstoffwechsels

einhergingen (z.B. Porphyria erythropoetica, coproporphyrinämische und protoporphyrinämische Lichtdermatose, Porphyria cutanea tarda) wurde jedoch eine deutlich gesteigerte Licht-hämolyse der Erythrocyten gefunden. Die Hämolysewerte betrugen hier zwischen 40 und 100 %.

5. Auch Erythrocyten von Patienten mit einer Lichtüberempfindlichkeit ohne nachweisbare Porphyrinstoffwechselstörung zeigten teilweise eine deutlich erhöhte Lichtempfindlichkeit. (Lichturticaria 100 %, polymorpher Lichtausschlag 41 - 100 %, Erythematodes chron. 2 - 59 %)

Aufgrund dieser vorläufigen Ergebnisse sind außer der Porphyrinstoffwechselstörung offenbar noch weitere Faktoren für das Zustandekommen der Licht-hämolyse verantwortlich, doch ist die Zahl der in dieser Arbeit untersuchten Fälle noch zu klein, um darüber endgültig Aufschluß zu bekommen. Es werden weitere ergänzende Untersuchungen zur Frage der beschleunigten Licht-hämolyse bei Lichtdermatosen nötig sein, um möglicherweise ihre Ursache zu klären bzw. um sie als Hilfsmittel zur Diagnostik heranziehen zu können.

VI. L i t e r a t u r a n g a b e n

- SACCHAROFF, G. und SACHS, H.:
Über die hämolytische Wirkung
der photodynamischen Stoffe.
M.med.Wschr. 7, 297 (1905)
- PFEIFFER, H.:
Über die Wirkung des Lichtes
auf Eosin-Blutgemische.
Wien.klin.Wschr. 2, 221 (1905)
- PFEIFFER, H.:
Über die Wirkung fluoreszieren-
der Stoffe (Eosin) auf
normales Serum und rote Blut-
körperchen.
Wien.klin.Wschr. 13, 328 (1905)
- HASSELBALCH, K.A.:
Untersuchungen über die Wir-
kung des Lichtes auf Blutfarb-
stoffe und rote Blutkörper-
chen wie auch über optische
Sensibilisation für diese
Lichtwirkungen.
Biochem.Zeitschr. 19, 435 (1909)
- HAUSMANN, W. und HAXTHAUSEN, H.:
Lichterkrankungen der Haut.
Sonderband zur Strahlenthera-
pie, Band XI, 71, Urban &
Schwarzenberg (1929)
- DIETRICH, H.:
Das Lichterythem unter dem
Einfluß von Menstruations-
zyklus und Schwangerschaft.
Strahlentherapie 27, 587 (1928)

KANSKY, A.:

Porphyrinausscheidung im Harn
bei Erythematodes discoides
chronicus.

Der Hautarzt 12, 231 (1961)

Herrn Professor Dr.med. K. W. K a l k o f f
möchte ich für die Überlassung des Themas,
die Anregungen und Beratung herzlich danken.

Mein herzlicher Dank gilt ferner Frau
Dr.rer.nat. A. B u c k für ihre eingehenden
Anleitungen bei der Durchführung der
experimentellen Untersuchungen.



Lebenslauf

Am 24. November 1937 wurde ich in Kehl/Rhein geboren als Tochter des Pfarrers Friedrich Schanbacher und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Dietrich.

Nach vierjährigem Besuch der Volksschule kam ich 1948 ins Zinzendorfgymnasium nach Königsfeld. 1950 zogen wir nach Büsingen, Kreis Konstanz. Von dort aus ging ich in die Kantonschule nach Schaffhausen/Schweiz. Um in Deutschland die Reifeprüfung abzulegen, besuchte ich von 1955 bis 1957 das Gymnasium in Tuttlingen, wo ich 1957 das Abitur bestand.

Im Sommersemester 1957 begann ich in Tübingen mit dem Medizinstudium. Nach 5 vorklinischen Semestern - im 3. Semester studierte ich in Freiburg - machte ich im Herbst 1959 in Tübingen das Physikum. Nach 6 klinischen Semestern, eines davon in Kiel, bestand ich im Dezember 1962 das Staatsexamen in Tübingen.

Von Januar bis August 1963 war ich auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Tuttlingen als Medizinalassistentin tätig. Von Oktober 1963 bis August 1964 führte ich an der Freiburger Universitäts-Hautklinik Untersuchungen für meine Dissertation durch.

Seit August 1964 bin ich als Medizinalassistentin auf der internistischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Tuttlingen.

